

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-131278

(P2000-131278A)

(43)公開日 平成12年5月12日(2000.5.12)

(51)Int.Cl.

識別記号

F I

テーマコード(参考)

G 0 1 N 27/447

G 0 1 N 27/26

3 1 5 K

審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平10-305017

(22)出願日 平成10年10月27日(1998.10.27)

(71)出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72)発明者 磯前 博巳

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器事業部内

(72)発明者 高橋 智

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器事業部内

(74)代理人 100068504

弁理士 小川 勝男

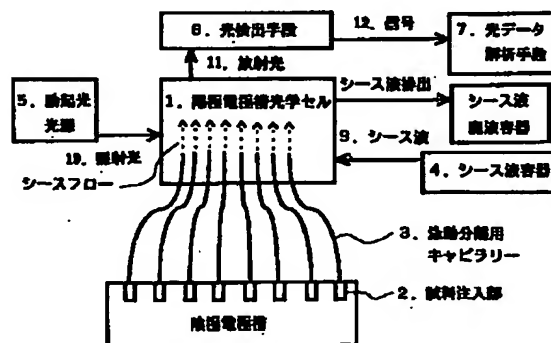
(54)【発明の名称】 キャピラリーアレイ電気泳動装置

(57)【要約】

【課題】キャピラリーの長さ相違を解消して、分析手法を簡素化可能なキャピラリーアレイ電気泳動装置を提供する。

【解決手段】大寸法ピッチの試料注入部と、小寸法ピッチの流出検出部との間に、長さの均一な複数のキャピラリーを取付け、寸法ピッチの相違に由来するキャピラリー形状の差違を保持部材により固定して、各キャピラリーを相互接触なく配置する。

図 1



【特許請求の範囲】

【請求項1】電源によって電圧を印加された陰極電極槽と陽極電極槽の間に設けた試料分離部が複数のキャピラリーから成る泳動路と、

複数の泳動分離用キャピラリーの一端が陰極電極槽に浸漬され、他端がその中に終端する陽極電極槽を兼ねた光学セルと、該光学セルの外部に設けたシース液容器と、該シース液容器から前記光学セル内にシース液を注入して流すことにより、前記複数の泳動分離用キャピラリーの各々から泳動流出する試料をシースフロー状態で前記光学セル中をフローさせるシースフロー形成手段と、該シースフロー部を光学検出部とし該光学検出部に光源から光照射して試料を検出する光検出手段とを有するキャピラリーアレイ電気泳動装置において、

前記複数の泳動分離用キャピラリーが均一長さであり、各泳動分離用キャピラリーの両端電極槽浸漬部間に、該各泳動分離用キャピラリーの長さ方向の交差方向に、所定間隔の切欠きを設けた部材を配して、該部材の切欠きに上記複数の泳動分離用キャピラリーを保持固定し、該複数の泳動分離用キャピラリーを相互非接触状態で保持固定してなることを特徴とするキャピラリーアレイ電気泳動装置。

【請求項2】請求項1記載の複数の泳動分離用キャピラリーを保持固定する切欠きを設けた部材の切欠きは、全て同様の螺旋形状であることを特徴とするキャピラリーアレイ電気泳動装置。

【請求項3】請求項1記載の複数の泳動分離用キャピラリーを保持固定する切欠きを設けた部材の代わりに、接着剤もしくは粘着剤を塗布した部材を、該泳動分離用キャピラリーの長さ方向の交差方向に固着させて、上記の泳動分離用キャピラリーを所定間隔に相互非接触状態で保持固定して成ることを特徴とするキャピラリーアレイ電気泳動装置。

【請求項4】前記複数の泳動分離用キャピラリーの内部が、ゲルで充填されることを特徴とする請求項1から3のいずれか1項記載のキャピラリーアレイ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、核酸、蛋白、糖等を分離分析する電気泳動装置に関し、特にDNA（核酸）等の検出、DNAの塩基配列の解析等に好適な電気泳動装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】遺伝子DNAの塩基配列を解析する手段として、DNAのリン酸エステル結合を酵素等により切断した試料を、電解質液を含有する平板状もしくはキャピラリー状のゲル分離媒体に注入し、試料注入端と対向する流出端との間に高電圧を印加して電気泳動法により、DNA切断片をその分子量に応じて分離する手段

が、広く利用されている。

【0003】近年、分離媒体の小形化と分離所要時間の短縮を目的として、特開平6-138037号公報に記載されているように、DNA切断片に蛍光標識を取付け、多数のキャピラリー状ゲル分離媒体を一平面状に並行配列し、試料注入部は手作業注入が容易なように大寸法ピッチであり、流出検出部は小寸法ピッチに構成して蛍光標識検出光学系を高精度化した解析装置が提起されている。

【0004】この装置では、図6(a)、(b)に示すように、試料注入部の大寸法ピッチbと、流出検出部の小寸法ピッチaとの間をつなぐため、キャピラリーの長さが中央部のキャピラリー32では短く、周辺部のキャピラリー31では長くなるので、長さの差に由来する電気泳動所要時間の差を、配慮した分析手法を採用していた。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記のキャピラリーアレイ電気泳動装置は、配列されたキャピラリーの長さの相違に由来する電気泳動所要時間の相違を、配慮した分析手法を要していた。

【0006】本発明の目的は、上記キャピラリーの長さ相違を解消して、分析手法を簡素化可能なキャピラリーアレイ電気泳動装置を提供するものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するため、大寸法ピッチの試料注入部と、小寸法ピッチの流出検出部との間に、長さの均一な複数のキャピラリーを取付ける。

【0008】各キャピラリーは、両端を上記試料注入部と流出検出部とで固定され、キャピラリー自体の弾性により弓形状に変形する。変形は連続的な弓形状曲線であるので、電気泳動の高電圧を均等に分布させて印加できる。

【0009】また、各キャピラリーが相互に接触すると、電気泳動時に各キャピラリーに発生するジュール熱が相互に影響し、分析結果に波及する懸念がある。

【0010】この懸念を払拭するために、キャピラリー長さ方向の交差方向に、所定間隔で切欠きを設けた固形部材を付与し、各キャピラリーを該切欠きに1本ずつ挿入して、各キャピラリーを空間的に保持する。

【0011】上記構成としたことにより、均一長さのキャピラリーを取付けたキャピラリーアレイ電気泳動装置を供給することが出来る。

【0012】また、上記各キャピラリーを空間的に保持する手段として、所要空間に位置する各キャピラリーに、粘着材を塗布した可撓性部材を付着して固定させても、同様の効果を得ることが出来る。

【0013】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施例について図

10

20

30

40

50

を用いて詳述する。

【0014】図1は、本発明の一実施例のキャピラリーアレイ電気泳動装置の構成を示す概念図の内のキャピラリー保持部材を省略した概念図であり、図2は図1の本発明一実施例のキャピラリーアレイ電気泳動装置の要部を示す平面図と側面図であり、図3は図2のキャピラリー保持部材の形状を示す正面図である。

【0015】図1のキャピラリーアレイ電気泳動装置は、電気泳動分離用の試料注入部2から供給したDNA分断片の蛍光標識試料を、トリスメタノールアミンと硼酸とエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム塩と水とを主成分とする電解質液と共に、100 μ m \sim 500 μ mの範囲の所定長さの、ポリアクリルアミドを主成分とするゲルを充填した泳動分離用キャピラリー3に送り込み、試料注入部2を含む陽極電極槽の電位を0とし、電気泳動流出物を検出する陽極電極槽光学セル1を1,000V \sim 5,000Vの正電位にした状態で電気泳動して、DNA分断片の蛍光標識試料の質量に対応して分離し流出した成分を、上記電解質液を成分とするシース液9をシース液容器4から供給してシースフロー状態として検出する。

【0016】そして陽極電極槽光学セル1において上記流出する位置に、励起光源5により励起光を照射し、電荷結合素子を利用した光検出手段6により、流出したDNA分断片の蛍光標識を検出する方法であり、検出された光データを光データ解析手段7で解析して、DNAの塩基配列を分析解明する装置である。

【0017】ポリアクリルアミドを主成分とするゲルを充填した泳動分離用キャピラリー3は、40 μ m \sim 100 μ mの範囲の所定内径で肉厚が30 μ m \sim 50 μ mの石英管に、肉厚が30 μ m \sim 50 μ mのエポキシ樹脂もしくはポリイミド樹脂等を被覆したキャピラリーに、ポリアクリルアミドと上記電解質液を主成分とするゲルを充填したものである。

【0018】図2(a)、(b)は、図1の装置の泳動分離用キャピラリー3の形状と、図1で省略したキャピラリー保持部材8の適用状態を説明する図である。複数の均一長さのキャピラリーは、両端を陽極電極槽光学セル1と電気泳動分離用試料注入部2で拘束され、キャピラリー自体が弾性を有するので、各キャピラリーは弓形状に変形する。弓形状に変形した各キャピラリーの相互接触を回避するため、キャピラリー保持部材8の弓形状の変形量に対応する位置に切欠きを設けて、各切欠きに試料注入部2におけるアレイ配列と同一順序で、各キャピラリーを1本ずつ挿入して間隔を保持する。

【0019】数量2n本の泳動分離用キャピラリー3の両端を拘束する、陽極電極槽光学セル1と試料注入部2とのアレイ配列部分を、同一平面上に距離寸法Lを配置し、且つ泳動分離用キャピラリー3全体が対称形となるようにし、最外側の泳動分離用キャピラリー31、32nを上記同一平面上に概略直線状に配置し、保持部材

8を陽極電極槽光学セル1と試料注入部2との中央位置に平行に配置し、陽極電極槽光学セル1側の配列ピッチ寸法をa、試料注入部2側の配列ピッチ寸法をb、保持部材8の厚さ寸法をcと図示している。

【0020】図3(a)、(b)は、キャピラリー保持部材8の形状と切欠き設置位置を説明する図である。キャピラリー保持部材8は、紙板、アクリル等の樹脂板、金属板を加工して製作する。切欠きの溝幅は、キャピラリーの外径を超え、2倍外径未満である。図2の寸法表示の下で、片側からi番目の切欠き8i位置の、最外側切欠き81位置との、上記同一平面と平行な距離を $(i-1) \times (b-a) / 2$ とすると、垂直な距離y_iは下記式の通りである。

【0021】

【数1】
$$\text{SQRT}[4 \times y_i^2 + (L-c)^2 + \{(n-i+1/2) \times (b-a)\}^2] = -c + \text{SQRT}[L^2 + \{(n-1/2) \times (b-a)\}^2]$$

即ちn=4、L=200 μ m、a=0.4 μ m、b=4.5 μ m、c=1 μ mの場合、平行距離ピッチ2.05 μ mで、垂直距離y₁=y₈=0、y₂=y₇=2.5 μ m、y₃=y₆=3.2 μ m、y₄=y₅=3.5 μ mである。

【0022】図4(a)、(b)は保持部材8の切欠き81、8iに挿入されたキャピラリーが、挿入後に外力で外れないように考慮した切欠き形状を説明する図である。キャピラリー保持部材8は、紙板、アクリル等の樹脂板、金属板を加工して製作する。切欠き81、8iの溝形状を各々概略同一に螺旋形状に形成し、該螺旋形状溝の最奥部に各キャピラリーを保持固定する。各キャピラリーの各切欠きへの挿入が容易なように、螺旋溝形状の切欠きの入り口と最奥部との距離を概略同等に形成している。溝幅はキャピラリー外径を超え、2倍外径未満である。図2の寸法表示の下で、片側からi番目の切欠き8i位置の、最外側切欠き81位置との、上記同一平面と平行な距離を $(i-1) \times (b-a) / 2$ とすると、垂直な距離y_iは上記式の通りである。

【0023】図5(a)、(b)は可撓性固着性保持部材13による各キャピラリーの保持固定を説明する図である。複数の均一長さのキャピラリーは、両端を陽極電極槽光学セル1と電気泳動分離用試料注入部2で拘束され、キャピラリー自体が弾性を有するので、各キャピラリーは弓形状に変形する。弓形状に変形した各キャピラリーの相互接触を回避するため、幅寸法cの紙製又はポリプロピレン等の樹脂製もしくは金属薄板製の薄板に、ポリイソブレンゴム等と溶剤等とで構成される粘着材を塗布した構成の、可撓性固着性キャピラリー保持部材13を陽極電極槽光学セル1と電気泳動分離用試料注入部2の中間位置で、各キャピラリーに接触させ固着して間隔を保持するものである。

【0024】

【発明の効果】以上詳述したように本発明によれば、均

一長さの複数キャピラリーを、相互に接触することなく円滑な形状で、電気泳動装置に取付けることができるので、従来方法の、長さの相違する複数キャピラリーを使用した電気泳動装置よりも、解析を単純化することができるので、解析性能を向上可能であり、性能的に優位なキャピラリーアレイ電気泳動装置を得ることが出来る。

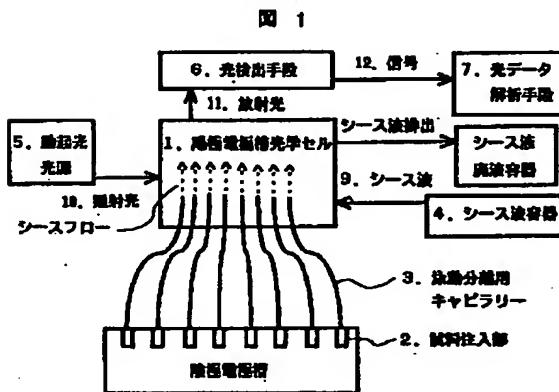
【0025】上記実施例では、弓形状に変形したキャピラリーの間隔保持のために、切欠きを有する部材を利用しているが、粘着剤や接着剤を適用しても、本発明の効果を得ることが可能である。また、各切欠きを同様の螺旋形状とすることにより、切欠きに導入した各キャピラリーに予期せぬ外力が、種々方向から加わっても、各キャピラリーは切欠きから逸脱することなく保持固定される。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明実施例のキャピラリーアレイ電気泳動装置の構成を示す概念図である。

【図2】本発明実施例のキャピラリーアレイ電気泳動装

【図1】



置の要部を示す平面図と側面図である。

【図3】(a)及び(b)は本発明実施例のキャピラリー保持部材の構造を示す正面図及び側面図である。

【図4】(a)及び(b)は本発明の請求項2の実施例のキャピラリー保持部材の構造を示す正面図及び側面図である。

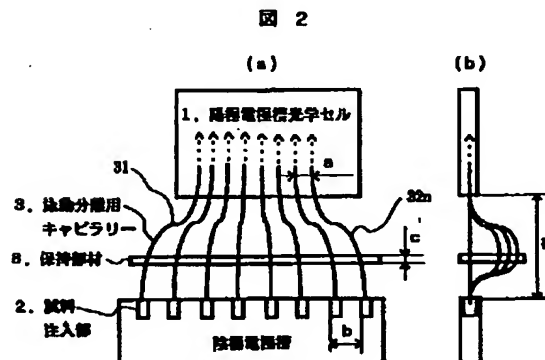
【図5】(a)及び(b)は本発明の請求項3の実施例のキャピラリーアレイ電気泳動装置のキャピラリー保持構造を示す要部の正面図及び側面図である。

10 【図6】(a)及び(b)は従来技術によるキャピラリーアレイ電気泳動装置の要部を示す正面図及び断面図である。

【符号の説明】

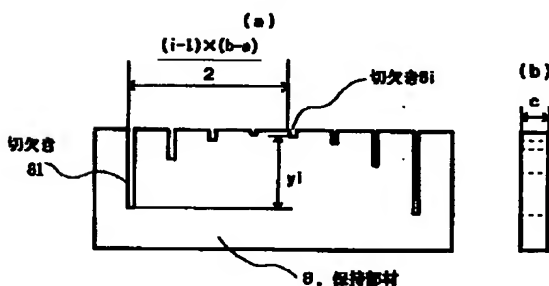
1…陽極電極槽光学セル、2…陰極電極槽、3…泳動分離用キャピラリー、4…シース液容器、5…励起光源、6…光検出手段、7…光データ解析手段、8…保持部材、9…シース液、10…照射光、11…放射光、12…信号、13…可撓性固着性保持部材。

【図2】



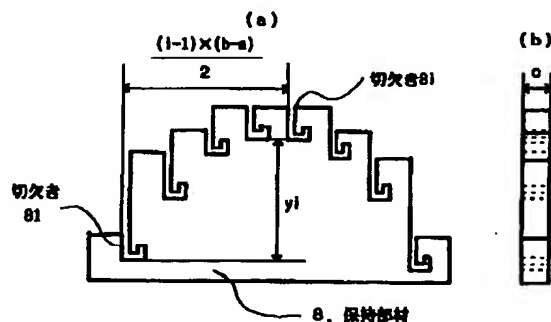
【図3】

図 3



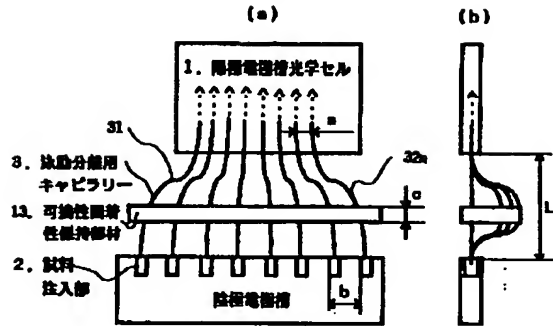
【図4】

図 4



【図5】

図 5



【図6】

図 6

